chicks – 50%. The course of disease was acute. The high pathogenicity of the strain under study causing death of chicks was demonstrated

Литература

1. Вирусные болезни животных / В.Н. Сюрин, А.Я. Самуйленко, Б.В. Соловьев, Н.В. Фомина. - М.: ВНИТИБП, 1998. - 928 с.
2. Госманов, Р.Г. Ветеринарная вирусология / Р.Г. Госманов, М.Н. Колычев. - М: КолосС, 2006. – 304 с.
3. Classication of Marek's disease viruses according to pathotype: philosophy and methodology / R.L. Witter, B.W. Calnek, C. Buscaglia, I.M. Gimeno, K.A. Schat // Avian Pathol.- 2005.- Vol. 34, N 2.- P.75-90.
4. Marek‧s disease. An evolving problem / Ed. by F. Davison and V. Nair. - London, Elsevier Acad. Press., 2004. –212 P.

Контактная информации об авторах для переписки

Чичерина Екатерина Александровна, ведущий ветврач лаборатории болезней Марека и лейкоза птиц ФГУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГУ «ВНИИЗЖ»). Адрес: 600028, г. Владимир, проспект строителей, д. 19 кв. 64. Тел.: (919) 018-30-11 (моб). E-mail: chicerina_kat@mail.ru.

УДК: 619:616.98:578.835.2:616-078

С.Р. Кременчугская, Н.Е. Камалова, А.И. Егорова, М.В. Жильцова, Д.Н. Афонина, В.Д. Юрчишин

(ФГУ Федеральный центр охраны здоровья животных (ФГУ «ВНИИЗЖ»))

ИЗУЧЕНИЕ АНТИГЕННЫХ СВОЙСТВ ИЗОЛЯТА ВИРУСА ЯЩУРА ТИПА А/КИРГИЗИЯ/07

Ключевые слова: вирус ящура, серология, изолят вируса, А/Киргизия/07, вакцина, антигенное родство.

Введение

Схема лабораторной диагностики болезней, протекающих с везикулярным синдромом, состоит из нескольких этапов. После постановки первичного диагноза на ящур задачей следующего этапа диагностики является определение биологических свойств возбудителя, его антигенного и иммуногенного спектров и степени одностороннего родства с производственными штаммами. В настоящее время, согласно Руководству МЭБ по диагностическим тестам и вакцинам для наземных животных, 2008 антигенное соответствие изолятов и производственных штаммов определяют в РМН и ИФА с сыворотками крови вакцинированного КРС [5, 7]. На основе этих данных прогнозируется эпизоотическая опасность очага болезни и ожидаемая эффективность вынужденной вакцинации. Окончательная классификация выделенного возбудителя проводится на основании данных о его двухстороннем антигенном родстве с ранее выделенными эпизоотическими изолятами и производственными штаммами в РСК с гипериммунными специфическими сыворотками морских свинок. [2].

Материалы и методы

Вирус ящура А/Киргизия/07 адаптировали к монослойным культурам клеток в течение 3-5 пассажей и использовали для определения антигенного соответствия производственным штаммам в РМН и ИФА. Для этого титр сыворотки КРС против полевого вируса сравнивали с титром сыворотки против гомологичного производственного штамма. Значение r_1, вычисляли по формуле:

$$r_1 = \frac{\text{титр референтной сыворотки с эпизоотическим изолятом}}{\text{титр референтной сыворотки с производственным изолятом}}$$

Значение r_1 в РМН интерпретировали согласно Barnett P. et al, 2001 [3]:

≥ 0.3 – штаммы антигенно родственны, производственный штамм будет защищать от полевого изолята;

< 0.3 – штаммы антигенно отличаются, производственный штамм не будет защищать от полевого изолята.

Значение r_1 в ИФА интерпретировали согласно критериям, установленным Ferris and Donaldson, 1992 [4]:

0,4-1,0 – близкое антигенное родство между полевым изолятом и производственным штаммом;

0,2-0,39 - полевой изолят антигенно родственен производственному штамму, вакцина из производственного штамма может быть использована, если не будет найдено более родственного штамма и при

условии, что животные будут иммунизированы более 1 раза;

<0,2 - полевой изолят отличается от производственного штамма, вакцина из которого не приемлема для защиты от заражения полевым вирусом.

Для постановки РСК с целью определения двустороннего антигенного родства использовали концентрированные инактивированные антигены, полученные при размножении вируса в культуре клеток IB-RS-2, и гипериммунные сыворотки морских свинок на штаммы вируса ящура типа А.

Двустороннее антигенное родство (R%) штаммов рассчитывали по формуле Архетти и Хорсфала ($R\% = 100x \sqrt{r_1 \times r_2}$). Штаммы вируса ящура считали относящимися к одному подтипу при $R \geq 40\%$, к разным подтипам — при $R = 25\text{-}40\%$ [1].

Результаты и обсуждение

В конце декабря 2007 г. в ФГУ «ВНИИЗЖ» из Департамента государственной ветеринарии Кыргызской Республики поступил патологический материал от КРС с подозрением на ящур. Для постановки диагноза применяли комплекс методов, таких как РСК, ИФА, ПЦР и вирусовыделение с использованием первичных и перевиваемых культур клеток. В поступившем материале методом ОТ-ПЦР был обнаружен вирус ящура типа А. В филогенетическом отношении вирус был отнесен к линии А Иран/05 топотипа Азия [6].

При заражении афтозным материалом чувствительных к вирусу ящура первично трипсинизированных и перевиваемых культур клеток СП, ПСГК-30 и IB-RS-2 уже в первом пассаже было отмечено проявление ЦПД. В культуре клеток ПСГК-30 выраженное ЦПД проявлялось через 24 часа после заражения, а полное отторжение клеток от стекла происходило через 48 часов после инокуляции материала. В культурах клеток СП и IB-RS-2 90-100%-ное ЦПД отмечали в первом пассаже через 20-24 часа после заражения. Было проведено 3-5 пассажей в культурах клеток, при этом титр инфекционной активности вируса, полученного в культуре клеток ПСГК-30, составил 5,0±0,15 и 7,0±0,08 lg $ТЦД_{50}$/мл в 4 и 5 пассажах соответственно. Титр инфекционной активности вируса 3 и 5 пассажей, репродуцированного в культуре клеток IB-RS-2, составил 6,33± 0,12 lg $ТЦД_{50}$/мл. Вирус 2 и 3 пассажей, размноженный в культуре клеток СП, имел титр инфекционной активности 5,0± 0,10 и 6,5±0,14 lg $ТЦД_{50}$/мл соответственно.

Изучение антигенного соответствия (r_1) изолята А Киргизия/07 производственным штаммам проводили в реакции микронейтрализации и жидкофазном блокирующем варианте ИФА с использованием сывороток крови КРС, иммунизированного моновалентными инактивированными вакцинами против ящура типа А. При этом в РМН для сравнения использовали штаммы A_{22} № 550/Азербайджан/64, A_{22} Ирак 24/64, А Иран/97 и А Турция/2006, а в ИФА - A_{22} № 550/Азербайджан/64, A_{22} Ирак 24/64 и А Иран/97. Результаты исследований приведены в табл. 1 и 2.

Исходя из приведенных в табл. 1 данных, следует заключить, что изолят А/Киргизия/07 является антигенно родственным штаммам вируса ящура A_{22} Ирак 24/64 и А Турция/06 (r_1 = 0,7 и 0,5), следовательно в Кыргызской Республике целесообразно применять вакцины, изготовленные из антигенов вируса ящура штаммов A_{22} Ирак 24/64 или А Турция/06.

Как следует из результатов изучения антигенного соответствия в ИФА (табл. 2) производственные штаммы A_{22} №550/64 и A_{22}/Ирак/64 имеют умеренное антигенное родство с изолятом вируса ящура А/Киргизия/07 (r_1 = 0,24) и, согласно интерпретации результатов, рекомендованной в Руководстве МЭБ по диагностическим тестам и вакцинам для наземных животных, 2008, могут быть использованы для профилактики и ликвидации ящура в составе высокоактивных вакцин при условии прове-

Таблица 1

Результаты определения в РМН антигенного соответствия (r_1) изолята вируса ящура типа А/Киргизия/2007 производственным штаммам типа А

Изолят	Сыворотки, r_1			
	A_{22} №550/64	A_{22} Ирак 24/64	А Турция/06	А Иран/97
А Киргизия/07	0,21	0,7	0,5	0,125

при значении $r_1 \geq 0,3$ полевой изолят и производственный штамм являются близкородственными, и вакцина из производственного штамма будет защищать от эпизоотического вируса; при значении $r_1 < 0,3$ полевой изолят отличается от производственного штамма, и вакцина из данного штамма не защищает от эпизоотического вируса.

Таблица 2

Результаты определения в ИФА антигенного соответствия (r_1) изолята вируса ящура типа А/Киргизия/2007 производственным штаммам типа А

Изолят	Сыворотки, r_1		
	A_{22} №550/64	A_{22}/Ирак/64	А Иран/97
А Киргизия/07	0,24	0,24	0,19

r_1 - 0,4 - 1,0 – близкое антигенное родство между полевым изолятом и производственным штаммом;
r_1 - 0,2 - 0,39 - полевой изолят антигенно родственен производственному штамму, вакцина из производственного штамма может быть использована, если не будет найдено более родственного штамма и при условии, что животные будут иммунизированы более 1 раза;
$r_1 < 0,2$ - полевой изолят отличается от производственного штамма, вакцина из которого не приемлема для защиты от заражения полевым вирусом

дения вакцинации более 1 раза [5]. В тоже время изолят А/Киргизия/07 отличается от штамма А Иран/97 ($r_1 = 0,19$).

Окончательная идентификация изолята вируса ящура типа А/Киргизия/07 была проведена в РСК при изучении двустороннего антигенного родства с производственными штаммами и ранее полученными изолятами. С этой целью были использованы концентрированные инактивированные антигены и гипериммунные сыворотки морских свинок А/Киргизия/07 и сравниваемых штаммов. Результаты изучения антигенного спектра в РСК, представленые в табл. 3, свидетельствуют, что изолят А/Киргизия/07 антигенно близкородственен изолятам, относящимся к генетической линии А/Иран/05 (R= 66-68%) и антигенно отличается от производственных штаммов вируса ящура типа А/Армения/98, А/Иран/97 и A_{22} №550/64 (R=7-14%). Изолят А/Киргизия/07 и европейский производственный штамма A_{22}/Ирак/64 относятся к разным подтипам (R=28%).

Полученный из эпизоотического изолята штамм вируса ящура типа А/Киргизия/07 в антигеном и филогенетическом отношении отличается от производственного штамма типа A_{22} №550/64, адаптирован к первичным и перевиваемым культурам клеток и предложен в качестве производственного при изготовлении противоящурных вакцин и диагностических препаратов.

Штамм паспортизирован и 7 июля 2009 года депонирован под регистрационным номером А №2045/Киргизия/2007-ДЕП во Всероссийской государственной коллекции штаммов микроорганизмов, используемых в ветеринарии и животноводстве.

Выводы

Результаты изучения антигенных свойств изолята вируса ящура А/Киргизия/07 свидетельствуют о его близком антигеном родстве с изолятами А/Турция/06 и А Иран 4/05 и значительном отличии от производственного штамма вируса ящура A_{22} № 550.

Полученный из эпизоотического изолята штамм вируса ящура типа А/Киргизия/07 адаптирован к первичным и перевиваемым культурам клеток и предложен в качестве производственного при изготовлении противоящурных вакцин и диагностических препаратов. Штамм паспортизирован и 7 июля 2009 года депонирован под регистрационным номером А №2045/Киргизия/2007-ДЕП во Всероссийской государственной коллекции штаммов микроорганизмов, используемых в ветеринарии и животноводстве.

Таблица 3

Результаты изучения двустороннего антигенного родства вируса ящура типа А/Киргизия/07 в РСК

Штаммы	r_1	r_2	R%
А/Иран/05	0,46	1,0	68
А/Турция/06	0,59	0,76	66
A_{22}/Ирак/64	0,08	1,0	28
A_{22} №550/64	0,02	1,0	14
А/Грузия/99	0,84	0,02	13
А/Иран/97	0,05	0,11	8
А/Армения/98	0,04	0,14	7

РЕЗЮМЕ

Для изучения антигенных свойств изолята А/Киргизия/07 использована схема, предложенная Шажко Ж.А., 1997 и модифицированная нами с учетом рекомендаций МЭБ. Полученные результаты свидетельствуют о том, что наиболее полную характеристику антигенного спектра изолята можно получить при использовании комплекса серологических методов – РМН, ИФА и РСК.

SUMMARY

A scheme proposed by Zh.A.Shazhko (1997) and modified by us according to the OIE recommendations is used for studying antigenic properties of A/Kyrgyzstan/07 isolate. The obtained results demonstrate that antigenic properties are most fully characterized when using the complex of serological methods: microneutralization test, ELISA and complement-fixation test.

Литература

1. Бурдов, А.Н. Ящур / А.Н. Бурдов, А.И. Дудников, П.В. Малярец.- М.: Агропромиздат, 1990. – С. 6.
2. Шажко, Ж.А. Проблемы унификации методов лабораторной диагностики ящура и других везикулярных болезней / Ж.А. Шажко // Пробл. инфекц. патологии с.-х. ж-ных.: тез. докл. конф. – Владимир, 1997. - С.25.
3. Barnett, P.V., The suitability of the 'emergency' foot-and-mouth disease antigens held by the International Vaccine Bank within a global context / P.V. Barnett, A.R. Samuel, R.J. Statham // Vaccine. – 2001. – Vol. 19. – N. (15/16). – P. 2107—2117.
4. Ferris, N.P. The World Reference Laboratory for foot-and-mouth disease: review of thirty-three years of activity (1958—1991) / N.P. Ferris, A.I. Donaldson // Rev. Sci. Tech. OIE. – 1992. – N. 11. – P. 657—684.
5. OIE. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and beers). -6th Edition, Paris, 2008. –Vol. 1. - P. 203-207
6. Scherbakov A., Virus diversity and vaccine selection: Russia, CIS-countries and Mongolia in 2000-2007 / A. Scherbakov, A. Timina, V. Borisov // "The Global Control of FMD: Tools, ideas and ideals": Open Session of the Research Group of the Stand. Techn. Comm. of the Europ. Commiss. for the Control of FMD.- Erice, Italy, 2008.- P.18.
7. Selection of foot and mouth disease vaccine strains – a review / D.J. Paton, J.-F. Valacher, J. Bergman [et al.] // Rev. Sci. Tech. OIE. – 2005. - Vol. 24(3). - P. 981-993.

Контактная информации об авторах для переписки

Кременчугская С.Р. – заведующая лабораторией ящура и везикулярных болезней, к.в.н., ***Камалова Н.Е.***- ст.н. сотр., к.в.н., ***Егорова А.И.*** - ст.н. сотр., к.в.н., ***Жильцова М.В.*** – м.н.с., ***Афонина Д.Н.*** – ведущий биолог, ***Юрчишин В.Д.*** - аспирант. ФГУ Федеральный центр охраны здоровья животных (ФГУ «ВНИИЗЖ»).